

**This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

20.08.99  
4

## 日本国特許庁

PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

JP99/4480

REC'D 08 OCT 1999

WIPO PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application:

1998年 8月21日

出願番号

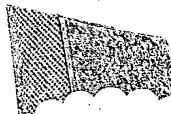
Application Number:

平成10年特許願第236146号

出願人

Applicant(s):

尾形 悅郎

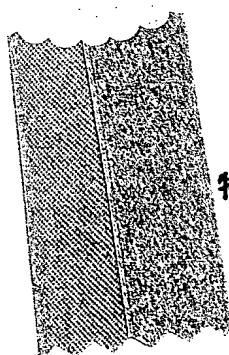
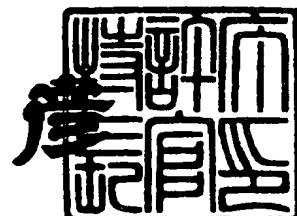

**PRIORITY  
DOCUMENT**

 SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

1999年 9月24日

 特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

近藤 隆



出証番号 出証特平11-3064055

【書類名】 特許願  
【整理番号】 981428  
【提出日】 平成10年 8月21日  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【国際特許分類】 G01N 33/53  
【発明の名称】 悪性腫瘍の骨転移を診断する方法  
【請求項の数】 17  
【発明者】  
【住所又は居所】 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人 癌研究会  
附属病院内  
【氏名】 尾形 悅郎  
【発明者】  
【住所又は居所】 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人 癌研究会  
附属病院内  
【氏名】 小泉 满  
【発明者】  
【住所又は居所】 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人 癌研究会  
附属病院内  
【氏名】 高橋 俊二  
【特許出願人】  
【住所又は居所】 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人 癌研究会  
附属病院内  
【氏名又は名称】 尾形 悅郎  
【代理人】  
【識別番号】 100089705  
【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル2  
06区 ユアサハラ法律特許事務所  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 杜本 一夫

【電話番号】 03-3270-6641

【選任した代理人】

【識別番号】 100071124

【弁理士】

【氏名又は名称】 今井 庄亮

【選任した代理人】

【識別番号】 100076691

【弁理士】

【氏名又は名称】 増井 忠式

【選任した代理人】

【識別番号】 100075236

【弁理士】

【氏名又は名称】 栗田 忠彦

【選任した代理人】

【識別番号】 100075270

【弁理士】

【氏名又は名称】 小林 泰

【選任した代理人】

【識別番号】 100096013

【弁理士】

【氏名又は名称】 富田 博行

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 051806

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 悪性腫瘍の骨転移を診断する方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 骨芽細胞の活性を反映するマーカーおよび破骨細胞の作用を反映するマーカーを用いることを特徴とする悪性腫瘍の骨転移の診断方法。

【請求項2】 骨芽細胞の活性を反映するマーカーとして、

(1) 骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期に関連するマーカーならびに石灰化期に関連するマーカー、あるいは

(2) マトリックス成熟期に関連するマーカーおよび石灰化期に関連するマーカー

を用いる、請求項1記載の診断方法。

【請求項3】 骨芽細胞の活性を反映するマーカーとして、

(1) PICPもしくはPINPおよびオステオカルシン、あるいは

(2) BALPおよびオステオカルシン

を用いる、請求項1または2記載の診断方法。

【請求項4】 破骨細胞の作用を反映するマーカーとして骨I型コラーゲンに関連するマーカーを用いる、請求項1~3のいずれか1項記載の診断方法。

【請求項5】 破骨細胞の作用を反映するマーカーとしてデオキシピリジノリンおよび/またはICTPを用いる、請求項1~4のいずれか1項記載の診断方法。

。

【請求項6】 石灰化期に関連するマーカーと骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期に関連するマーカーとの比(クロスオーバーインデックス)の値、および破骨細胞の作用を反映するマーカーの測定値に基づくか、あるいは、石灰化期に関連するマーカーとマトリックス成熟期に関連するマーカーとの比(クロスオーバーインデックス)の値、および骨I型コラーゲンに関連するマーカーの測定値に基づく、請求項1~5のいずれか1項記載の診断方法。

【請求項7】 オステオカルシンとPICPもしくはPINPとのクロスオーバーインデックスの値、およびICTPの測定値に基づくか、あるいは、オステオカルシンとBALPとのクロスオーバーインデックスの値、およびICTPの測

定値に基づく、請求項6記載の診断方法。

【請求項8】骨芽細胞の活性を反映するマーカーおよび破骨細胞の作用を反映するマーカーを用いることを特徴とする薬剤の治療効果を判定する方法。

【請求項9】薬剤が抗癌性化学療法剤である請求項8記載の方法。

【請求項10】薬剤が骨吸収抑制剤である請求項8記載の方法。

【請求項11】薬剤が内分泌療法剤である請求項8記載の方法。

【請求項12】骨芽細胞の活性を反映するマーカーとして、

(1) 骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期に関連するマーカーならびに石灰化期に関連するマーカー、あるいは

(2) マトリックス成熟期に関連するマーカーおよび石灰化期に関連するマーカー

を用いる、

請求項8～11のいずれか1項記載の方法。

【請求項13】骨芽細胞の活性を反映するマーカーとして、

(1) PICPもしくはPINPおよびオステオカルシン、あるいは

(2) BALPおよびオステオカルシン

を用いる、請求項8～12のいずれか1項記載の方法。

【請求項14】破骨細胞の作用を反映するマーカーとして骨I型コラーゲンに関連するマーカーを用いる、請求項8～13のいずれか1項記載の方法。

【請求項15】破骨細胞の作用を反映するマーカーとしてデオキシピリジノリンおよび／またはICTPを用いる、請求項8～14のいずれか1項記載の方法。

【請求項16】石灰化期に関連するマーカーと骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期に関連するマーカーとの比（クロスオーバーインデックス）の値、および骨I型コラーゲンに関連するマーカーの測定値に基づくか、あるいは、石灰化期に関連するマーカーとマトリックス成熟期に関連するマーカーとの比（クロスオーバーインデックス）の値、および骨I型コラーゲンに関連するマーカーの測定値に基づく、請求項8～15のいずれか1項記載の方法。

【請求項17】オステオカルシンとP I C PもしくはP I N Pとのクロスオーバーインデックスの値、およびI C T Pの測定値に基づくか、あるいは、オステオカルシンとB A L Pとのクロスオーバーインデックスの値、およびI C T Pの測定値に基づく、請求項16記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、乳癌、前立腺癌、肺癌等に伴う骨転移を診断する方法、これらの疾患を治療するための薬剤の治療効果を判定する方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

癌による骨転移の診断は、従来より臨床症状、単純X線、骨シンチグラフィ、CT、MRIなどの画像診断により行われている。画像的には、骨転移は溶骨型、骨硬化型、混合型に分類されるが、骨転移の部分での溶骨と造骨のバランスをみているわけである。画像診断法は診断能は高く有用であるが、概して高額でありスクリーニングや経過観察には適していない。

【0003】

近年、骨代謝学の進歩により様々な骨代謝マーカーの開発がなされている。表1に骨形成マーカーと骨吸収マーカーを示した。これらの骨代謝マーカーでの癌の骨転移診断の試みが行われている (Koizumi,M., et al., Bone metabolic markers in bone metastases (骨転移における骨代謝マーカー) ; J, Cancer Res. and Clin. Oncol., 121: 542~548, 1995)。

## 【0004】

【表1】

<p><b>骨形成マーカー</b></p> <p>① I型プロコラーゲンペプチド…… proliferation            C端プロペプチド (P I C P)            N端プロペプチド (P I N P)</p> <p>② アルカリホスファターゼ…… matrix formation            総アルカリホスファターゼ (A L P)            骨型アルカリホスファターゼ (B A L P)</p> <p>③ オステオカルシン (O C) …… mineralization            C端断片            中間部            I n t a c t</p>
<p><b>骨吸収マーカー</b></p> <p>① pyridinium 架橋            尿中総ピリジノリン・デオキシピリジノリン (H P L C法)            尿中遊離デオキシピリジノリン (f D P D)</p> <p>② pyridinium 架橋結合コラーゲンペプチド断片            血中C端テロペプチド (I C T P)            尿中C端テロペプチド (C T x)            尿中N端テロペプチド (N T x)</p> <p>③ 酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (T R A P)</p> <p>④ galactosyl hydroxylysine (G H Y L)</p> <p>⑤ ハイドロキシプロリン</p> <p>⑥ N端オステオカルシン</p>

## 【0005】

骨代謝マーカーのうち多くのものは、骨基質の90%を占めるI型コラーゲンの形成、吸収過程で血液中および尿中に放出された代謝産物を測定することにより成り立っている。すなわち、骨形成に伴い合成されるI型プロコラーゲンがI型コラーゲンへと変換される際に放出されるC端、N端プロペプチドは、骨形成のマーカーとなる。また、骨吸収の過程では、骨基質中のI型コラーゲンが代謝を受け血液中や尿中に放出される。これらを測定することにより骨吸収のマーカ

一にしようとするものである。

### 【0006】

骨形成は、骨芽細胞の増殖、分化の過程で大きく分けて3つの相に分かれることが知られている。すなわち、骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期、マトリックス成熟期、および石灰化期であり、各々の相で現れるマーカーが異なることが知られている (Stein,G.S.,et al.: Relationship of cell growth to the regulation of tissue-specific gene expression during osteoblast differentiation (骨芽細胞分化の過程における組織特異的遺伝子発現の調節に対する細胞成長の関係) ; FASEB J, 4:3111~3123, 1990)。

骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期ではI型コラーゲンが盛んに形成され、C端、N端のプロペプチドが血中に現れる。マトリックス成熟期には、骨でのアルカリホスファターゼ (BALP) の生成が盛んになり、この時期には血液中にBALPが分泌される。石灰化期には、オステオカルシン (OC) が出現する。このOCを欠損させたマウスでは骨形成が亢進し、OCが骨形成の抑制物質として働くことを示唆する (Ducy, P., et al.: Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice (オステオカルシン欠乏マウスにおける骨形成増大) ; Nature, 382:448~452, 1996)。

なお、表1の骨形成マーカーの欄において、①のproliferation が骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期に、②のmatrix formation がマトリックス成熟期に、③のmineralization が石灰化期にそれぞれ対応する。

骨形成のマーカーは前述のごとく様々あるが、病態により挙動が異なることがあり、各マーカーがどの相で現れるかを理解しておくことが重要である。

### 【0007】

骨吸収マーカーには様々なものがあるが、最近注目されているものはやはりI型コラーゲンの代謝産物である。I型コラーゲンは三重鎖構造をもつコラーゲンがピリジノリンおよびデオキシピリジノリンにより架橋された形で存在するため、骨吸収によりI型コラーゲンが破壊された時に、様々な大きさのN端およびC端の終末アミノ酸のついたピリジノリンおよびデオキシピリジノリン架橋部が血

液中に放出される。

骨吸収のマーカーとして測定されているものには、架橋部のみを測定するもの（尿中ピリジノリンおよびデオキシピリジノリン；遊離しているもののみを測定する）、C端のアミノ酸を含めた部分を測定するもの（CTxやICTP）、N端のアミノ酸を含めた部分を測定するもの（NTx）などがある。骨代謝マーカーの一般的な詳細については、Calvo, M.S. et al. ; Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover (骨ターンオーバーの生物学的マーカーの分子的基礎および臨床応用) ; Endocrinology Rev., 17: 333~368, 1996) に詳しく記載されている。

#### 【0008】

骨転移における骨代謝マーカーは、骨粗鬆症などの代謝性の骨疾患とやや異なる動きをする。骨形成マーカーでは、PICP、BALPの上昇が骨硬化型の骨転移の代表である前立腺癌骨転移でみられるが、骨粗鬆症などで上昇するオステオカルシンはあまり増加しない。その機序については現在不明である。混合型の骨転移を呈する乳癌においては、骨形成マーカーの上昇はみられるが、前立腺癌ほどではない。溶骨型の骨転移の多い肺癌においては、骨形成マーカーはあまり増加しない。

骨吸収マーカーでは、ICTPは他の骨代謝マーカーと異なり閉経ではありませんが、癌の骨転移では増加することが判明している。骨転移検出の観点からはICTPは閉経期の骨吸収亢進の影響を受けないよいマーカーといえよう。骨吸収マーカーは、溶骨型の多い肺癌骨転移で増加するだけでなく、混合型の多い乳癌、さらには骨硬化型の前立腺癌においても増加する。

#### 【0009】

##### 【発明が解決しようとする課題】

骨代謝マーカーの分野の研究は進歩が著しいが、マーカーの十分な比較検討はなされていないのが現状であり、様々な骨吸収と骨形成マーカーがあり、骨転移の診断において現時点でのマーカーが最もよいかは断定できない。

また、骨転移の臨床診断においてどのマーカーを用いるかは各医師の判断に委

ねられているため、骨転移を総合的にモニターしていく手法は未だ確立されていない。

本発明の目的は、骨転移を総合的にモニターしていくツールを提供する点にある。

#### 【0010】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明者らは、このような状況に鑑み、骨転移を総合的にモニターしていくツールを開発すべく銳意研究を重ねた結果、骨芽細胞の活性を反映するマーカー（骨形成マーカー）および破骨細胞の作用を反映するマーカー（骨吸収マーカー）を組み合わせることによって上記目的を達成することができることを見いだし、この知見に基づいて本発明を完成した。

すなわち、本発明は、骨芽細胞の活性を反映するマーカーおよび破骨細胞の作用を反映するマーカーを用いることを特徴とする悪性腫瘍の骨転移を診断する方法を提供する。

また、本発明は、骨芽細胞の活性を反映するマーカーおよび破骨細胞の作用を反映するマーカーを用いて薬剤の治療効果を判定する方法を提供する。

#### 【0011】

##### 【発明の実施の形態】

以下に本発明を完成するための基礎となった知見について記載する。

###### （1）骨芽細胞から產生される骨形成マーカー：

図1に示すように、骨芽細胞の分化に伴い、マーカーの発現はP I C P およびPINP（タイプIプロコラーゲンペプチド）からBALP（骨アルカリホスファターゼ）へ、さらにオステオカルシンへと変化する（Stein,G.S., et al.; FASEB J, 4: 3111~3123, 1990）。

###### （2）骨転移を有する前立腺癌患者および乳癌患者における化学療法に対するBALPおよびオステオカルシンの反応：

骨転移の状態によって（1）の2つの骨形成マーカーのレベルが異なることを以下の2つの実施例によって確認した。

#### 【0012】

## 【実施例1】

1994年10月から1996年4月の間に、骨転移を有する前立腺癌患者43名、骨転移なしの前立腺癌患者46名を対象として、骨形成マーカーのレベルを調べた。明らかに骨転移なしの前立腺癌患者46名のうち、29名は前立腺切除または放射線治療を受けた経験があり、その他の17名は新たに診断を受けた患者であり、骨シンチと血清サンプリングの後で前立腺切除または放射線治療を受けた。骨転移なしの患者の平均年齢は69歳（年齢範囲47歳-85歳）であった。これらの患者の癌の進行度合は、4名の患者がステージA、14名の患者がステージB、19名の患者がステージC、9名の患者がステージD1であった。一方、骨転移を有する患者43名のうち、9名は新たに診断を受けて、骨シンチと血清サンプリングの後でホルモン療法を受けていた。その他の34名の患者はホルモン療法および／または化学療法による積極的な治療をこれらの療法の開始時から種々の間隔で受けている。骨転移を有する患者の平均年齢は69歳（年齢範囲53歳-83歳）であった。

## 【0013】

すべての患者に関して、インフォームドコンセントが得られた後、骨シンチの際に採血して血清を分離し、分析を行うまで-40°Cで冷凍保存した。血清中のBALPをアルクファーゼ-Bキット (ALKPHASE-B kit, Metra Biosystems) を用いたエンザイムイムノアッセイ（免疫測定法）で測定した。また、血清中のオステオカルシンは三菱 BGP-IRMA キット（三菱化学）を用いたイムノラジオメトリックアッセイ（放射免疫測定法）で測定した。

## 【0014】

結果を図2に示す。図2において、Z値とは（測定値-骨転移がない患者の平均値）／（骨転移がない患者のSD）で定義される値である。また、図2においてCR、flare、NC、IMP、new、PDはそれぞれ下記の意味を有する。

- ・ CR : complete remission (完全寛解)。
- ・ flare : flare up (実際には治療が有効であったにもかかわらず、bone scan (骨シンチ) の画像上

で骨転移が進行した様にみられたもの)。

- NC : no change (変化が認められなかったもの)。
- IMP : improvement (改善の兆候が認められたもの)。
- new : 新たに骨転移ありと診断されたもの。
- PD : progression of disease (疾患の進行がみられたもの)。

【0015】

BALPおよびオステオカルシンについての上記各群におけるZ値は以下の通りであった。

BALPのZ値

CR :	2. 18
flare :	3. 40
NC :	8. 23
IMP :	2. 39
new :	1. 82
PD :	24. 50

オステオカルシンのZ値

CR :	1. 30
flare :	-0. 18
NC :	0. 04
IMP :	1. 25
new :	0. 08
PD :	0. 05

これらの値を用いてオステオカルシンとBALPとの各群におけるクロスオーバーインデックスを算出した。

クロスオーバーインデックス

CR:	0. 596
flare:	-0. 053
NC:	0. 005
IMP:	0. 523
new:	0. 044
PD:	0. 002

## 【0016】

上記から明らかなように、B A L Pについて治療をして効果があったC RではZ値が低く(2. 18)、悪化したP DではZ値が高い(24. 50)ことが分かった。一方、オステオカルシンについては治療をして効果があったC RではZ値が高く(1. 30)、悪化したP DではZ値が低い(0. 05)ことが分かった。C Rのクロスオーバーインデックスは0. 596であるのに対して、P Dのクロスオーバーインデックスは0. 002であることから、両者は著しい差を有することが認められた。このことから、クロスオーバーインデックスにより骨転移の進行度合および薬剤による治療効果の程度を診断することが可能である。

## 【0017】

## 【実施例2】

実施例1と同様にして、骨転移を有する乳癌患者644例、骨転移なしの乳癌患者206例、合計850例の乳癌患者を対象として、骨形成マーカー(B A L Pおよびオステオカルシン)のレベルを調べた。骨転移を有する患者においては、骨転移部位への化学療法または内分泌療法の治療効果により、C R、N C、I M P、n e w、P D群に分類し、それぞれの群のB A L PのZ値およびオステオカルシンのZ値を求めた。さらに、これらのZ値から各々の群についてクロスオーバーインデックスを算出した。

## 【0018】

すべての患者に関して、インフォームドコンセントを得た後、骨シンチの際に採血して血清を分離し、測定を行うまで-40°Cで冷凍保存した。血清中のB A

LPはアルクファーゼ-Bキット (ALKPHASE-B kit, Metra Biosystems) を用いたエンザイムイムノアッセイ (免疫測定法) で測定した。また、血清中のオステオカルシンは、三菱 BGP-IRMA キット (三菱化学) を用いたイムノラジオメトリックアッセイ (放射免疫測定法) で測定した。結果を以下に示す。

【0019】

BALPのZ値

CR:	0. 741
NC:	1. 514
IMP:	0. 735
new:	2. 021
PD:	5. 041

オステオカルシンのZ値

CR:	0. 267
NC:	0. 237
IMP:	0. 039
new:	-0. 167
PD:	0. 516

クロスオーバーインデックス

CR:	0. 360
NC:	0. 157
IMP:	0. 053
new:	-0. 083
PD:	0. 102

【0020】

図3にCR, NC, IMP, newおよびPDにおけるクロスオーバーインデックスをグラフで示す。

図3から明らかなように、治療をして効果があったCRのクロスオーバーインデックスは0.360であるのに対して、悪化したPDのクロスオーバーインデックスは0.102であることから、両者は著しい差を有することが認められた。このことから、乳癌の場合もクロスオーバーインデックスにより骨転移の進行度合および薬剤による治療効果の程度を診断することが可能である。

#### 【0021】

上記実施例1および2の結果により、骨転移があり、薬剤による治療効果がある場合(CR)はクロスオーバーインデックスが高く、効果がなく悪化している場合(PD)はクロスオーバーインデックスが低いことが示された。したがって、骨転移の改善度合(治療効果)を見るには骨芽細胞のマーカーによるクロスオーバーインデックスが極めて有効であることが裏付けられた。

一方、前立腺癌においてはCRとIMP、NCとPDのクロスオーバーインデックスが近接しており、造骨性が主体となる前立腺癌の骨転移に対する治療効果を反映している。しかしながら、乳癌においては、NCとPDは近接しているものの、CRとIMPは近接しておらず、前立腺癌とは若干異なる結果である。このことは乳癌が造骨性素因もあるものの、溶骨性素因が強い骨転移像を呈することからこのような差が生じたものと考えられる。したがって、骨転移の進行度合(増悪度合)をより正確に診断するためには、骨形成マーカーだけではなく、骨吸収マーカーの測定も必要と考えられる。

#### 【0022】

上記実施例1および2においては石灰化期に関連するマーカーであるオステオカルシンとマトリックス成熟期に関連するマーカーであるBALPとのクロスオーバーインデックスを測定することによって、悪性腫瘍の骨転移の進行度合および薬剤による治療効果の程度についての診断を行った。さらに、本発明者らは、石灰化期に関連するマーカーであるオステオカルシンと骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期に関連するマーカーであるPICPまたはPINPとのクロスオーバーインデックスを測定することによっても悪性腫瘍の骨転移の進行度合および薬剤による治療効果の程度についての診断を行うことが可能であることを確認している。石灰化期に関連するマーカーであればオステオカルシン以外のマー

マーも用いることができ、骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期に関連するマーカーであればP I C P およびP I N P 以外のマーカーも用いることができ、マトリックス成熟期に関連するマーカーであればB A L P 以外のマーカーも用いることができるることは言うまでもない。

#### 【0023】

これまでに、骨形成マーカーは幾つか同定され、個々別々に測定されてきており、骨芽細胞の分化・成熟に従って、產生される時期が異なることは知られていた。しかし、骨転移の指標として、どの骨形成マーカーに限定して測定したら、「骨芽細胞の分化・成熟が癌の骨転移によって抑制される」ことを反映するのかは、明確にされていなかった。上記クロスオーバーインデックスという指標から骨転移の進行度合および薬剤による治療効果の程度を把握するということは従来技術からは予測し得ないことであった。

#### 【0024】

一方、癌転移による骨破壊は、破骨細胞によって行われる。その際の骨吸収マーカーとしては、幾つかが知られているが、骨転移の程度（悪性度）および治療による骨破壊の抑制効果は、I C T P（タイプIコラーゲンカルボキシ末端テロペプチド）という比較的大きな分子量のコラーゲン代謝物を同定することが優れている（例えば、The Bone, Vol. 10, No. 3, p. 111~118, 1996を参照）。以下に、I C T Pを利用した骨転移の程度および治療による骨破壊の抑制効果に関する実施例を示す。

#### 【0025】

##### 【実施例3】乳癌治療におけるI C T Pのレベル

骨転移に対する化学療法剤の併用療法（シクロホスファミド、ドキソルビシンおよび5-フルオロウラシル：C A F）を受けた23名の乳癌患者についてI C T Pのレベルを測定した。なお、補助療法としてC A Fを受けた骨転移のない9名の乳癌患者を対照群とした。

すべての患者からインフォームドコンセントを得た後、骨形成および骨吸収を示す骨代謝マーカーを測定した。C A F治療開始時およびC A F治療が終わるまで毎月1回骨シンチの際に採血して血清を分離した。分離した血清は分析を行う

まで-40°Cで冷凍保存した。骨形成マーカーとしてBALPをエンザイムイムノアッセイ (ALKPHASE-B kit, Metra Biosystems) によって測定した。骨吸収マーカーとしてICTPをラジオイムノアッセイ (Orion Diagnostica) によって測定した。また、血清中のCA 15-3をイムノラジオメトリックアッセイ (Centocor) によって測定した。得られた測定値は平均およびSE (標準誤差) で表した。Bonferroni法による分散分析 (ANOVA) を用いて有意差検定を行った。

#### 【0026】

結果を図4に示す。図4から、PR (partial response) およびNCの患者のICTP値と比較してPDの患者のICTP値は有意に上昇した。フレア (flare) の患者のICTP値はPDの患者の場合よりも有意に低下し、NC患者およびflare-upなしのPR患者のICTP値と相違しなかった。なお、図4における、PD, フレア (flare) およびNCは実施例1の場合と同じ意味を有する。PRとは、部分的に治療効果の認められたものと意味する。

なお、BALPおよびCA 15-3の値はいずれも統計学的な有意差を示さなかった。

したがって、ICTPのレベルを測定することにより癌の骨転移の増悪度合を判定することができる。

#### 【0027】

実施例1～3によって得られた知見により、骨転移の改善度合（治療効果）を見るには骨芽細胞のマーカーを、骨転移の増悪度合を見るには破骨細胞のマーカーをそれぞれ用いて、双方のマーカーをモニターすることにより的確な診断を下すことができると言える。

#### 【0028】

##### 【発明の効果】

上述のように、本発明によれば、乳癌、前立腺癌、肺癌等によつてもたらされる骨転移およびかかる骨転移を惹起する癌に対する薬剤の治療効果を従来方法よりもはるかに的確に診断することが可能となつた。

【図面の簡単な説明】

【図1】

骨芽細胞の分化に伴う種々のマーカーの発現を示す図である。

【図2】

骨転移を伴う前立腺癌患者に対する化学療法剤の効果とPICP、BALPおよびオステオカルシンとの関係を示すグラフである。

【図3】

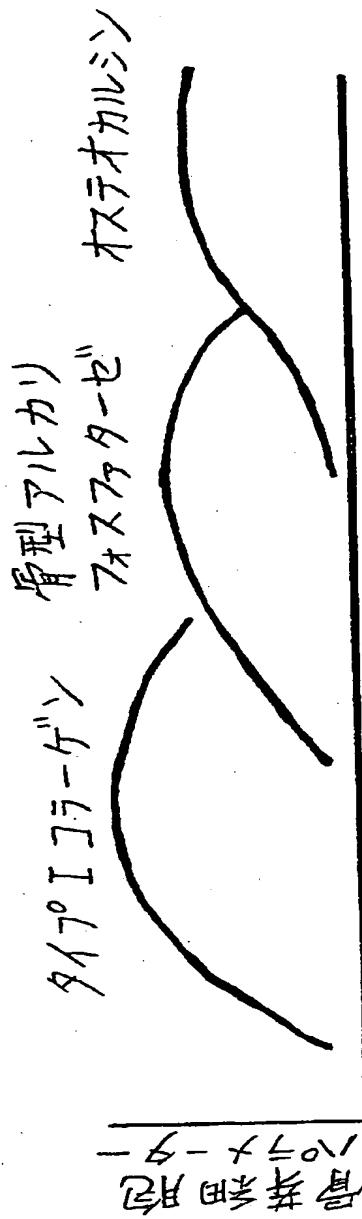
乳癌患者におけるBALPおよびオステオカルシンのクロスオーバーインデンクスを表すグラフである。

【図4】

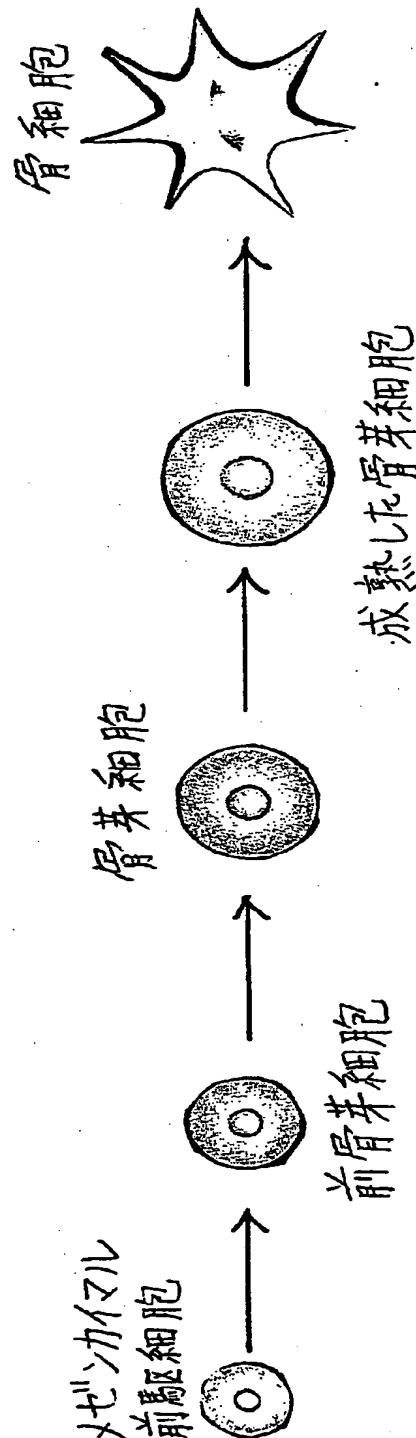
乳癌の治療過程におけるICTP値の変化を示すグラフである。

【書類名】 図面

【図 1】

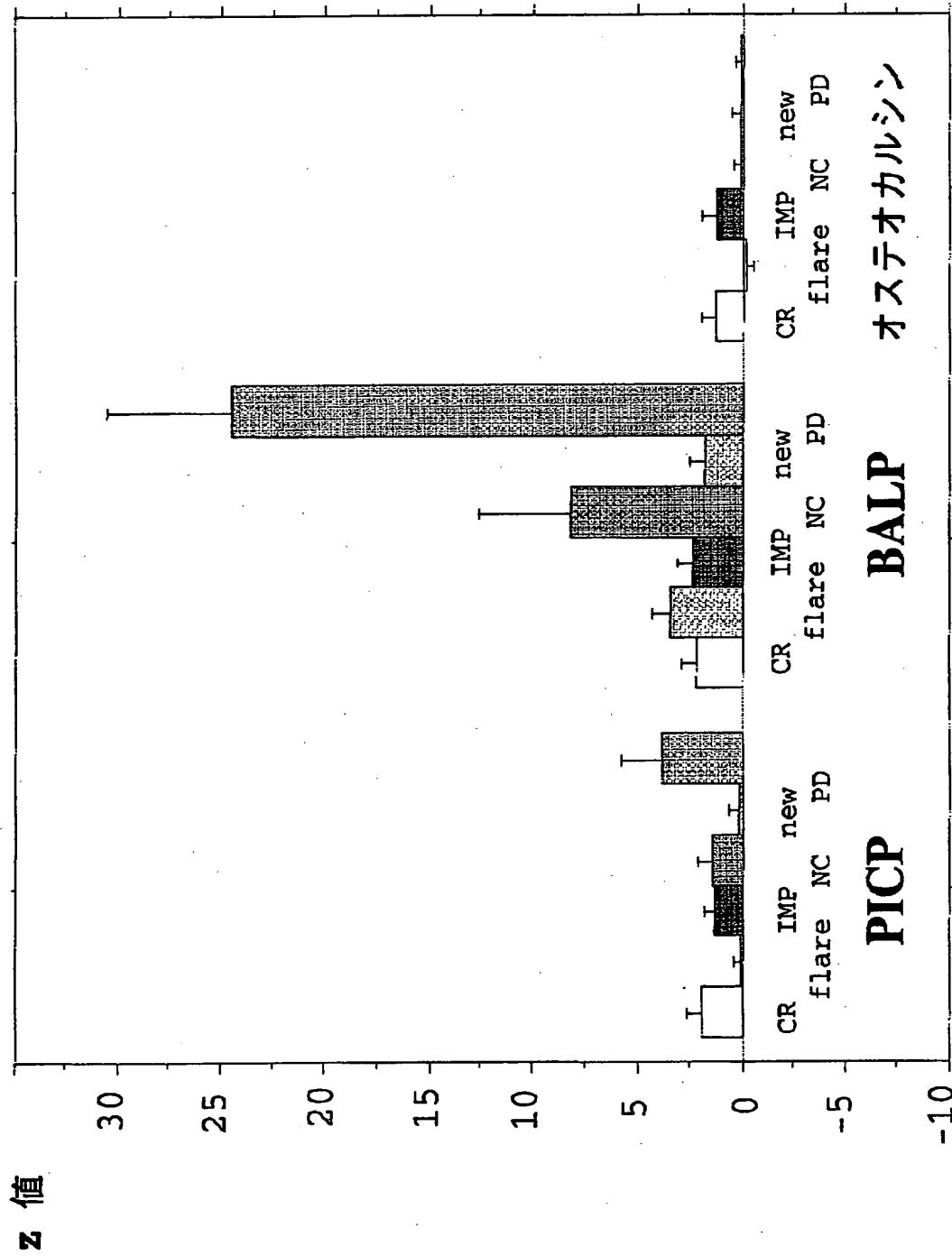


骨芽細胞の分化と成熟の段階



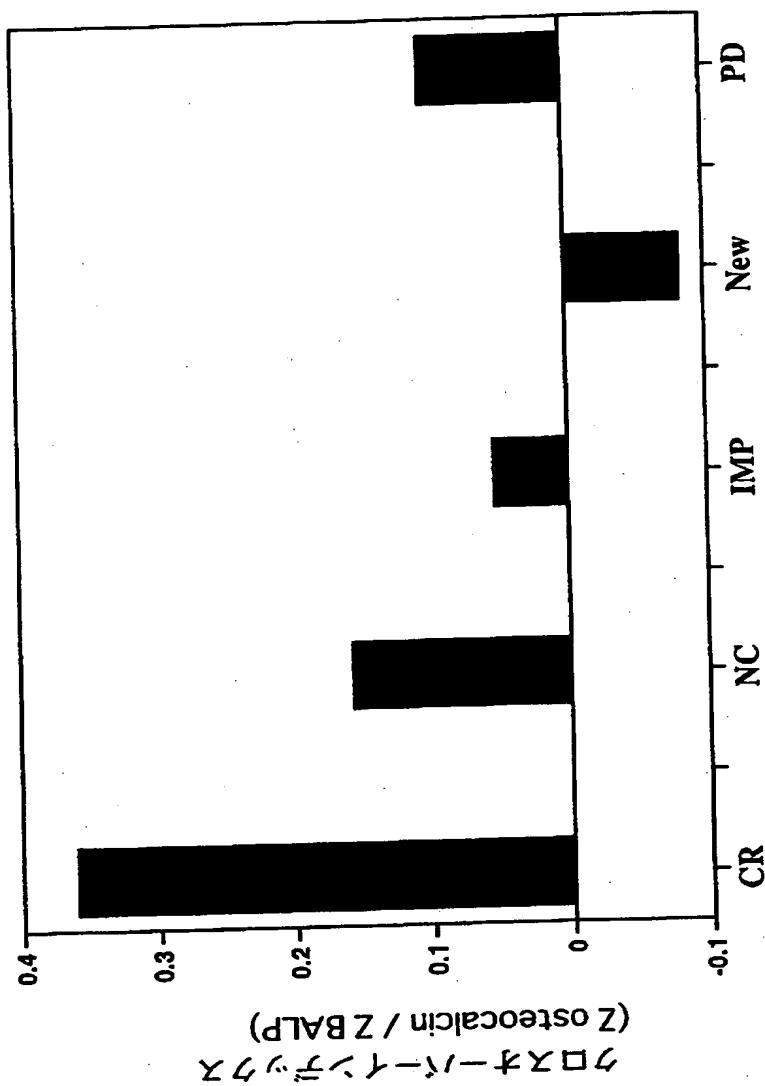
【図2】

前立腺患者に対する治療と骨形成マーカーの関係

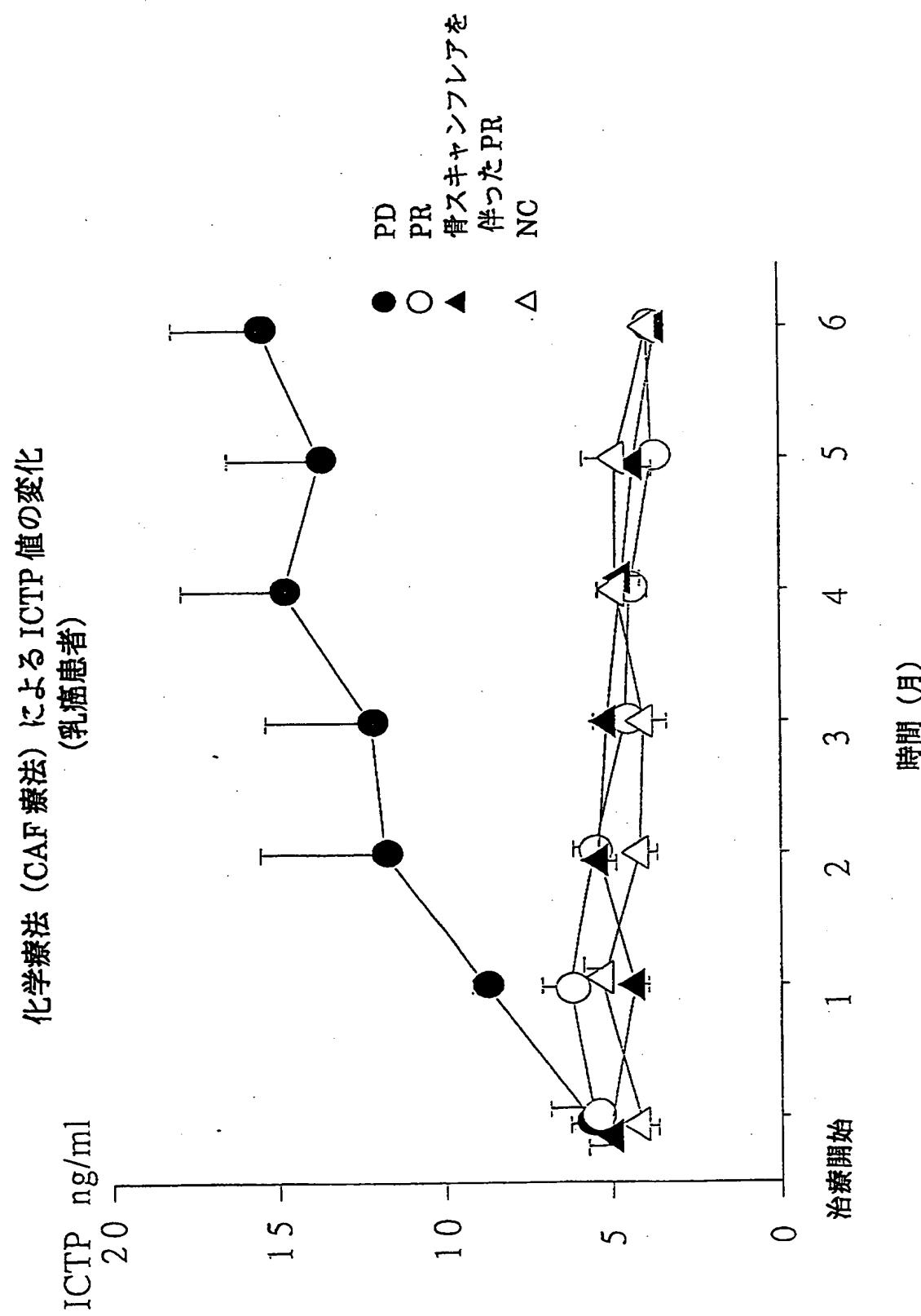


【図3】

化学療法によるクロスオーバーインデンシクスの変化  
(乳癌骨転移例)



【図4】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 乳癌、前立腺癌、肺癌等によってもたらされる骨転移およびかかる骨転移を惹起する癌に対する薬剤の治療効果をより的確に診断する方法を提供すること。

【解決手段】 骨芽細胞の活性を反映するマーカーおよび破骨細胞の作用を反映するマーカーを用いて骨転移およびかかる骨転移を惹起する癌に対する薬剤の治療効果を診断する。

【選択図】 なし

【書類名】 職権訂正データ  
 【訂正書類】 特許願

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

## 【特許出願人】

【識別番号】 598113944  
 【住所又は居所】 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人 猛研究会附属病院内

## 【代理人】

【識別番号】 100089705  
 【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所  
 【氏名又は名称】 松本 一夫

## 【選任した代理人】

【識別番号】 100071124  
 【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所  
 【氏名又は名称】 今井 庄亮

## 【選任した代理人】

【識別番号】 100076691  
 【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所  
 【氏名又は名称】 増井 忠式

## 【選任した代理人】

【識別番号】 100075236  
 【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所  
 【氏名又は名称】 栗田 忠彦

## 【選任した代理人】

【識別番号】 100075270  
 【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所  
 【氏名又は名称】 小林 泰

## 【選任した代理人】

【識別番号】 100096013  
 【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所  
 【氏名又は名称】 富田 博行

出願人履歴情報

識別番号 [598113944]

1. 変更年月日 1998年 8月21日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人 癌研究会附属病院内

氏 名 尾形 悅郎

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**